

ساختار، عملکرد و کاربرد اینتئین ها در بیوتکنولوژی: یک مقاله مروری

حمید صدیقیان^۱، غلامرضا اولاد^۲، مهدیه محبوبی^۳، محمد فواد حیدری^۳، حمید کوشکی^۴، علی محمد لطیفی^{۱*}

^۱مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران؛ ^۳مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران؛ ^۴مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: اینتئین ها عناصر ژنتیکی هستند که نقشی شبیه اینترون ها را از خود نشان می دهند. با این تفاوت که علاوه بر رونویسی ترجمه هم می شوند. این عناصر در سطح پروتئین از پروتئین میزبان خود جدا شده و پایین دست و بالا دست خود را به یکدیگر متصل می کنند. هدف از نگارش این مقاله مروری در ابتدا آشنایی مختصر با بیوتکنولوژی و کاربردهای آن و سپس آشنایی با عناصر ژنتیکی به نام اینتئین و کاربردهای آن در بیوتکنولوژی می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، مقالات مرتبط با موضوع از پایگاه داده های معتبر خارجی مانند ISI، PubMed و Scopus و همچنین مقالات فارسی نیز از بانک اطلاعاتی ایران مدکس استخراج و مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها: اولین بار اینتئین در سال ۱۹۹۰ در مخمر ساکارومایسس سرویزیه مورد شناسایی قرار گرفت. اینتئین ها پردازش پروتئین را طی یک پروسه درون مولکولی بدون نیاز به کوفاکتور و منبع انرژی متابولیکی انجام می دهند. اینتئین ها دارای کاربرد زیادی در بیوتکنولوژی از جمله ایجاد پروتئین های حلقوی به منظور تولید کتابخانه های بزرگ ژنی و تخلیص سریع پروتئین ها می باشد.

نتیجه گیری: اینتئین ها با توجه به داشتن خاصیت جدا شدن از پروتئین ها و اتصال قسمت های بالا دستی و پایین دستی خود چه به صورت طبیعی چه به صورت مهندسی شده در بسیاری از فناوری های کاربردی ویژه مانند آنزیم شناسی، مهندسی پروتئین، شناسایی هدف، تولیدات ریز آرایه و تخلیص پروتئین های نو ترکیب کاربرد دارند.

واژه های کلیدی: اینتئین، ویرایش پروتئین، بیوتکنولوژی، تخلیص پروتئین.

مقدمه:

در محافظت محیط زیست کاربرد دارد (۳). بیوتکنولوژی از جمله واژه های سر و صدای سال های اخیر است. بیوتکنولوژی را تاکنون به بیان های مختلف تعریف نموده اند. به طور مثال فدراسیون بیوتکنولوژی در اروپا این چنین تعریف کرده است که بیوتکنولوژی علمی بین رشته ای است که از علوم بیوشیمی، میکروبیولوژی و علوم مهندسی با استفاده از قابلیت های میکروارگانیسم ها در تولید محصولات در صنعت بهره می برد (۴). دانشمندان

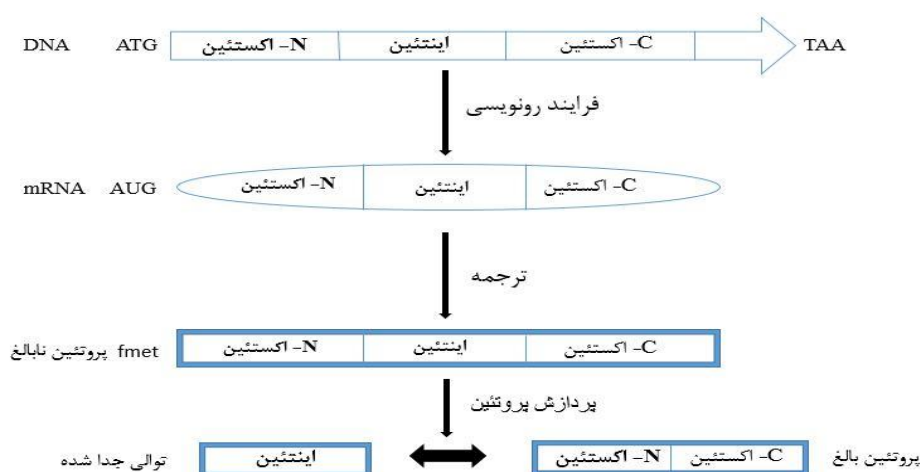
واژه بیوتکنولوژی یا زیست فناوری نخستین بار در سال ۱۹۱۹ از سوی کارل ارکی (Karl Ereky) به مفهوم تولید یک فرآورده از مواد خام توسط ارگانیسم زنده به کار برده شد (۱). بیوتکنولوژی محصول در هم آمیخته شدن علم بیولوژی با تکنولوژی می باشد (۲). این علم در زمینه تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری ها، در حوزه تولید محصولات بیوشیمیایی ارزان قیمت و جدید مانند داروها و واکسن، در افزایش تولیدات محصولات غذایی و

*نویسنده مسئول: تهران- دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی- تلفن: ۰۲۱-۸۲۴۸۲۵۴۹

E-mail: amlatifi290@gmail.com

بریتانیایی عنوان نموده اند که بیوتکنولوژی از موجودات، سیستم یا فرآیندهای بیولوژی برای تولید محصولات و یا خدمت رسانی به صنعت استفاده می نمایند و همچنین در تعریفی دیگر بیوتکنولوژیست های ژاپنی بیان نموده اند که بیوتکنولوژی یک فناوری است که از پدیده های زیستی برای ساخت و کپی انواع مواد مفید مختلف استفاده می نماید (۵،۲). تمامی این تعریف ها به نحوی صحیح هستند، اما تعریف کامل و بی کم و کاستی را بیان نمی نمایند. بهترین تعریفی که تا به امروز در مورد واژه بیوتکنولوژی بیان شده است، مربوط به اداره تکنولوژی کنگره آمریکا می باشد که عنوان می کند بیوتکنولوژی تکنیکی است که از ارگانیسم های زنده یا محصولات آن ها به منظور ساخت یا اصلاح یک محصول، اصلاح جانوران و گیاهان و یا دست کاری میکروارگانیسم ها به منظور یک هدف خاص به کار می رود (۶). محصولات تولید شده توسط بیوتکنولوژی تأثیر شگرفی بر روی کیفیت زندگی بشر گذاشته است (۷). بیوتکنولوژی به لحاظ ویژگی های ذاتی خود دانشی بین رشته ای است (۸). در علوم بین رشته ای تولید یک محصول در واقع ترکیبی از ایده های چند رشته است و بدون همکاری همدیگر محصول مورد نظر تولید و ساخته نخواهد شد.

پیشرفت در زمینه علوم پایه سبب شده است که یک تکنولوژی مناسب برای کاربردهای بیوتکنولوژی ایجاد شود. به طور مثال پیشرفت در علم ایمنی شناسی سبب به وجود آمدن ابزاری به نام تکنولوژی تولید آنتی بادی های مونوکلونال شده است که در زمینه تشخیص و درمان بیماری ها کاربرد دارد. اخیراً با پیشرفت در زمینه زیست مولکولی سبب به وجود آمدن تکنیک خاص مانند ویرایش اینتئین ها شده است که در زمینه خالص سازی پروتئین ها نقش به سزایی دارند. اینتئین ها عناصر ژنتیکی هستند که نقشی شبیه اینترون ها را از خود نشان می دهند. با این تفاوت که علاوه بر این که رونویسی می شوند، مورد ترجمه هم قرار می گیرند. این عناصر در سطح پروتئین از آن جدا شده و پایین دست و بالا دست خود را به یکدیگر متصل می کند. به دو قسمتی که توسط اینتئین ها از یکدیگر جدا می شوند اکستئین (Extein) یا پروتئین های خارجی (External protein) گویند؛ همچنین قسمت بالا دستی اینتئین را که سمت N- ترمینال پروتئین است با N- اکستئین (N- Extein) و قسمتی که پایین دست و در سمت C- ترمینال پروتئین قرار دارد را با C- اکستئین (C- Extein) نشان می دهند (۹-۱۱) (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: شکل شماتیک از اینتئین و محل قرارگیری و نقش آن‌ها

اینتئین ها در سطح ژن وجود دارند و علاوه بر رونویسی ترجمه هم می شوند و سپس طی فرایندی به نام ویرایش پروتئین از میزبان خود جدا شده و قسمت بالا دست و پایین دست خود را به هم متصل می نمایند.

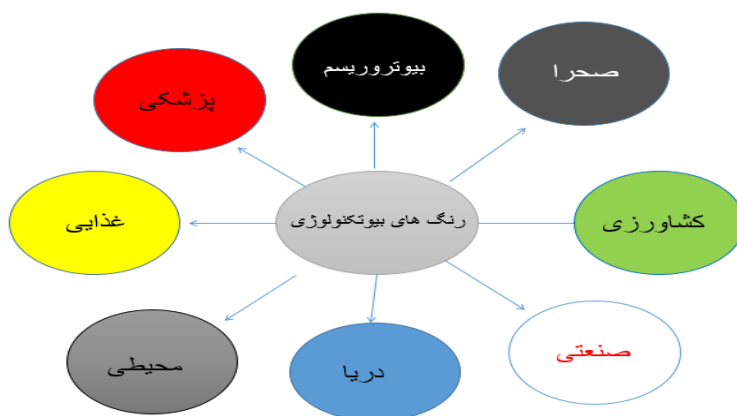
یافته ها:

سابقه به کارگیری بیوتکنولوژی و استفاده از میکروارگانیسم ها در تولید مواد مختلف به بیش از ۸ هزار سال پیش بر می گردد (۱۲). کاربردهای سنتی بیوتکنولوژی شامل اصلاح نباتات و دام، تهیه خمیر نان، ماست، پنیر و صنعت شراب سازی و پس از آن تولید پادزیست ها (آنتی بیوتیک ها)، انسولین انسانی و اینترفرون می باشد (۱۶-۱۲). با پیدایش فناوری DNA نو ترکیب، دستکاری ژن ها انتقال ژن از یک موجود زنده به موجود زنده دیگر یا به عبارت دیگر مهندسی ژنتیک، ظرفیت بهره گیری از این فناوری به گونه فزاینده ای افزایش یافته است (۱۷). تاکنون تقسیم بندی های متعددی به منظور نشان دادن کاربردهای مختلف بیوتکنولوژی انجام شده است که یک شکل از آن ها بر اساس استفاده از رنگ ها می باشد. به طوری که دانشمندان این حوزه بر اساس سلیقه و کاربردهای بیوتکنولوژی جهت بیان مقاصد خود از این رنگ ها استفاده نموده اند که در زیر به صورت مختصر به آن ها می پردازیم (تصویر شماره ۲).

هدف از نگارش این مقاله ی مروری در ابتدا آشنایی مختصر با بیوتکنولوژی و کاربردهای آن و سپس آشنایی با عناصر ژنتیکی به نام اینتین و کاربردهای آن در بیوتکنولوژی از جمله ایجاد پروتئین های حلقوی به منظور تولید کتابخانه های بزرگ ژنی، تخلیص سریع پروتئین ها، ایجاد تغییرات کوچک در سطح بیومولکول ها و انتقال ترانس ژن ها به موجودات دیگر می باشد.

روش بررسی:

در این مطالعه، در ابتدا حدود ۱۵۰ مقاله مرتبط با بیوتکنولوژی و اینتین از بانک های اطلاعاتی معتبر داخلی و خارجی مانند ISI، PubMed و Scopus و منابع فارسی نیز از بانک اطلاعاتی ایران مدکس و SID استخراج و پس از مطالعه چکیده آن ها ۹۴ مقاله که ارتباط بیش تری با موضوع مکانیسم ویرایش پروتئین ها، ساختار و عملکرد اینتین ها و همچنین کاربرد آن ها بالاخص در زمینه ی بیوتکنولوژی داشتند انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند.



تصویر شماره ۲: دسته بندی کاربردهای بیوتکنولوژی با استفاده از رنگ ها

در این روش هر رنگ به یک کاربرد بیوتکنولوژی اختصاص داده شده است.

کشاورزی آمده و سبب تولید محصولات تریخته گوناگون و ایجاد بیوتکنولوژی سبز یا کشاورزی شده

با توجه به افزایش بی رویه جمعیت و اهمیت نیاز به تأمین مواد غذایی بیش تر، بیوتکنولوژی به کمک علم

است. در حال حاضر این محصولات تراریخته اصلاح شده با کیفیت و میزان محصول تولیدی بالاتر و یا مقاوم به آفت، مانند: ذرت، برنج، گندم، سویا، سیب زمینی و انواع میوه ها وجود دارند؛ همچنین استفاده موثر از این فناوری در دام پروری سبب افزایش تولید شیر و گوشت بیش تر از طریق اصلاح نژاد شده است (۱۸، ۱۹).

بیوتکنولوژی قرمز مربوط به پزشکی و سلامت انسان می باشد و به این دلیل که خون که یکی از اصلی ترین عوامل مربوط به سلامتی انسان می باشد. این رنگ به آن اختصاص داده شده است. تولید داروهای نو ترکیب و واکسن های نسل جدید با کارایی بالا، پیدا کردن روش های تشخیصی و درمانی کم هزینه و یافتن راهی برای درمان بیماری های صعب العلاج مانند سرطان، تشخیص سریع بیماری های گوناگون از جمله بیماری های ژنتیکی از جمله وظایف بیوتکنولوژی پزشکی یا قرمز می باشد (۱۹).

بیوتکنولوژی در صنعت دارای کاربردهای فراوانی است که منجر به تولید محصولاتی با هزینه و انرژی کم تر، ضایعات اندک و از همه مهم تر داشتن کم ترین اثر سوء بر محیط زیست شده است. به طوری که این فناوری به عنوان یکی از پاک ترین بخش ها در صنعت می باشد و به همین دلیل به عنوان بیوتکنولوژی سفید نام گرفته است (۲۰).

دسته دیگر بیوتکنولوژی دریا یا آبی است که به دلیل مشاهده رنگ آبی در دریاها و اقیانوس ها به این رنگ نام گذاری شده است. دریاها و اقیانوس ها به عنوان یک منبع غنی از تنوع بیولوژیکی و شیمیایی نیز مطرح می باشند. این تنوع شامل ترکیبات شیمیایی خاص جهت تولیدات صنعتی و پزشکی، لوازم آرایشی، منابع غذایی، شناساگرهای مولکولی، آنزیم ها و مواد مورد استفاده در کشاورزی و شیلات می باشد. استفاده از روش های بیوتکنولوژی در دریا می تواند نیازهای زیادی از زنجیره غذایی بشر را برطرف نماید (۲۱، ۲۲).

از بیوتکنولوژی غذایی یا زرد شاید بتوان به عنوان قدیمی ترین شاخه از بیوتکنولوژی نام برد.

بیوتکنولوژی غذایی عبارت است از استفاده از سلول های زنده یا بخشی از آن ها به منظور تولید یا اصلاح محصولات غذایی یا مواد افزودنی مورد استفاده در صنایع غذایی نام برد. به عنوان مثال به کارگیری مستقیم توده سلولی میکروارگانیسم ها به عنوان پروتئین تک یاخته، استفاده از میکروب ها در تولید محصولات غذایی تخمیری نظیر ماست و پنیر و محصولات گوشتی تخمیر شده، پرورش قارچ های خوراکی، تولید سس های متنوع، تولید طعم دهنده ها، شیرین کننده ها و افزودنی های خوراکی، آنزیم های مورد استفاده در صنایع غذایی، ویتامین ها و اسیدهای آمینه و آلی تنها گوشه ای از کاربردهای بسیار متنوع بیوتکنولوژی در صنایع غذایی هستند (۲۵-۲۳).

بیوتکنولوژی خاکستری یا محیطی به مشکلات مربوط به محیط اطراف زندگی ما می پردازد. رویکرد جدید به محیط زیست در قرن حاضر و در نظر گرفتن آن به عنوان یک سرمایه ملی و لزوم حفظ آن به کمک بیوتکنولوژی محیط زیست، با ایجاد روش های نوین موثر در زمینه حذف آلاینده های محیطی خطرناک با استفاده از میکروارگانیسم های پالایشگر و همچنین حفظ ذخایر ژنتیکی، می باشد. البته در دسته بندی دیگر بیوتکنولوژی تخمیر سنتی مانند الکل و سرکه را جزء بیوتکنولوژی خاکستری تقسیم بندی می نمایند (۲۶، ۲۷).

کاربرد بیوتکنولوژی قهوه ای یا صحرا در واقع مدیریت مناطق خشک و بی آب و علف می باشد. در حدود ۷۵٪ از قاره آفریقا را صحرا تشکیل داده است که همین امر باعث ایجاد مشکلات فراوان از قبیل کمبود مواد غذایی و ایجاد فقر غذایی در جمعیت های حاضر در این مناطق شده است. با اصلاح بذرها که با شرایط این مناطق سازگار باشند می توان تا حدود زیادی بر این مشکلات غلبه کرد. دانشمندان امیدوارند با پیشرفت در زمینه بیوتکنولوژی صحرا بتوانند مشکل جمعیت های فقیر را هر چه زودتر حل نمایند (۲۸، ۲۹).

به علت ظهور علم بیوانفورماتیک در گذشته نچندان دور و کارایی بالای آن، نام بیوتکنولوژی طلایی

را به این دسته دادند. تحقیقات در حوزه بیوتکنولوژی، حوزه های زیست محیطی، سلامت و امنیت غذایی، تنها با تعامل بیوتکنولوژی و بیوانفورماتیک محقق می شود. بیوانفورماتیک را دانشی میان رشته ای اطلاق کردند که افراد با زمینه های علوم زیستی و فنی، مهندسی، آمار و تلفیقی از این علوم، می توانند در علم بیوانفورماتیک موثر واقع شوند (۲۹).

اگر به تاریخچه بیوتروریسم و اقدامات بیوتروریستی تاریخ مانند استفاده ایتالیا از عامل تب زرد در اتیوپی در سال ۱۹۶۰، استفاده شوروی از باران زرد (مایکوتوکسین) علیه شورشیان محلی در سال ۱۹۷۶ و ... نگاهی بیاندازیم، متوجه خواهیم شد که مبنای تعریف بیوتکنولوژی سیاه از بیوتروریست همین استفاده های معمول از عوامل بیولوژیک و توکسین های آن ها برای از بین بردن دشمن و ایجاد جو روانی بوده است. پیشرفت های علمی در زمینه بیوتکنولوژی مانند تنوع زیستی، پروژه توالی یابی ژنوم انسان و سایر موجودات، مهندسی ژنتیک و دست ورزی ژن ها، نانوتکنولوژی، بیوانفورماتیک و غیره سبب شده است که سیاه ترین و بدترین نوع استفاده از علم بیوتکنولوژی در زمینه بیوتروریسم به کار رود و با کشتن فرد یا افراد به صورت خاموش و با شیوه های بیولوژیک، استفاده از عوامل بیولوژیک برای تخریب و بیوتروریسم کشاورزی موجب مشکلات برای کشورهای دیگر شوند (۲۹، ۳۰).

هر علم و تکنیکی نیاز به ابزارهای مخصوص به خودش را دارد و بیوتکنولوژی از این قاعده مستثنی نمی باشد. ابزارهای مهم مورد نیاز این علم شامل بیوانفورماتیک، مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین، تکنولوژی فرمانتور و کشت سلولی و مهندسی بافت می باشد.

بیوانفورماتیک شاخه ای از علوم است که با استفاده از تکنیک های مختلف مانند کامپیوتر، ریاضی کاربردی، آمار، شیمی، بیوشیمی و بیولوژی به ارزیابی اطلاعات و سازمان دهی آن ها بدون هیچ گونه کار آزمایشگاهی می پردازد و باعث حل مشکلات

بیولوژی در سطح مولکول در کم ترین زمان ممکن می گردد (۳۱، ۳۲). مهندسی ژنتیک، به مجموعه روش هایی گفته می شود که به منظور جداسازی، خالص سازی، وارد کردن یک ژن خاص و بیان آن در یک میزبان به کار می روند و نهایتاً منجر به بروز یک صفت خاص و یا تولید محصول مورد نظر در جاندار میزبان می شود (۳۳). فرمانتور دستگاهی است که شرایط بهینه را برای رشد میکروارگانیسم های مثل قارچ و باکتری و مخمر فراهم می کند. این میکروارگانیسم ها در این شرایط خاص، بهتر و بیش تر رشد و فعالیت خواهند کرد. استفاده از فرمانتور به میکروارگانیسم ها این امکان را می دهد که پیش از انتقال به مرحله ی تولید بیش از ده نسل تکثیر نمایند. با این دستگاه می توان پارامترهای محیطی از جمله pH، دما و میزان کف تولید شده را به صورت پیوسته کنترل کرد. فرمانتورها کاربردهای گوناگونی مانند: تولید انواع داروها و واکسن ها برای دستیابی به درمان بسیاری از انواع بیماری ها (به خصوص هپاتیت، ایدز و سرطان)، تولید انواع سرم های مختلف و تولید سموم مانند توکسین دیفتری به روش کشت معلق در فرمانتور را دارند. کشت سلولی به فرایند کشت کنترل شده سلول های پروکاریوتی یا یوکاریوتی در محیط کشت، گفته می شود. این اصطلاح بیش تر در مورد کشت سلول های جانوران پر یاخته ای کاربرد دارد. برای کشت یاخته های جانوری از محیط کشت ویژه ای استفاده می شود. معمولاً یاخته های جانوری را در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در انکوباتورهای دی اکسید کربن دار کشت می دهند (۳۴). کشت یاخته های جانوری باید در محیط عاری از آلودگی ها انجام گیرد، چون رشد یاخته های جانوری بسیار کندتر از رشد باکتری ها و مخمرها است و امکان آلودگی وجود دارد. برای جلوگیری از رشد باکتری ها گاهی از آنتی بیوتیک هایی مانند پنی سیلین، استرپتومایسین و یا جنتامایسین استفاده می شود. محیط های کشت اختصاصی برای رشد یاخته های مشخص نیز وجود دارد (۳۷-۳۵).

اینتئین در سال ۱۹۹۰ زمانی که دو گروه از محققین به طور همزمان بر روی ژن VMA1 مخمر ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces Cerevisiae*) که تولید پمپ پروتونی $H^+ATPase$ می‌کند، برای اولین بار مورد شناسایی قرار گرفت (۳۸،۱۱). ژن VMA1 از ۳۲۱۳ نوکلئوتید تشکیل شده است که پیش بینی می‌گردد. پروتئینی با ۱۰۷۱ اسید آمینه و با وزنی در حدود ۱۱۸ کیلودالتون تولید کند، اما پروتئین در ژل SDS-PAGE، وزن حدود ۶۷ کیلودالتون از خود نشان می‌دهد. اگر ژن VMA1 را با پمپ پروتونی $H^+ATPase$ دیگر ارگانسیم‌ها مورد هم‌ردیفی (Align) قرار گیرد ناحیه C-ترمینال و N-ترمینال آن شبیه دیگر ارگانسیم‌ها است، اما ناحیه میانی این پروتئین که شامل ۴۵۴ اسید آمینه است. شبیه به اندونوکلئاز ساکارومایسس سرویزیه می‌باشد. این ناحیه اندونوکلئازی در توالی mRNA واجد این قطعه میانی است، اما طی فرایندهای پس از ترجمه از پروتئین خارج می‌گردد. این خاصیت چون شبیه به وجود اینترون و اگزون در پیش mRNA می‌باشد، قطعه جدا شونده را اینتئین (توالی داخل پروتئین) و قطعات کناری آن را اکستئین (توالی خارج پروتئین) نام‌گذاری کردند (۱۱).

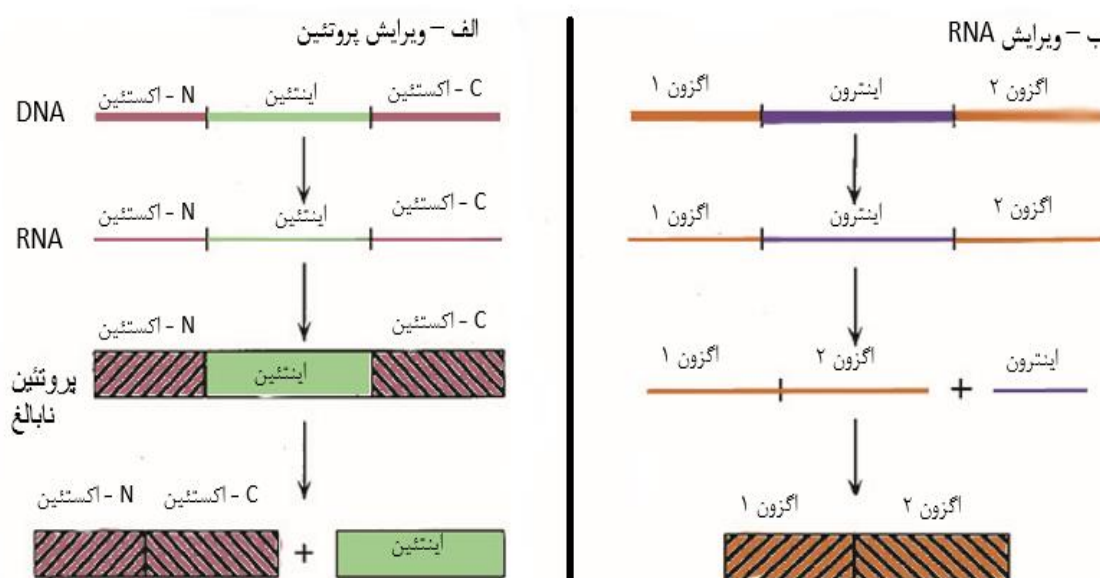
بیش تر ژن‌های یوکاریوتی به حالت موزائیک قرار دارند و قسمت‌های کد کننده ژن‌ها توسط قسمت‌های غیر کد کننده از یکدیگر جدا می‌شوند. به توالی‌های که مورد ترجمه قرار می‌گیرند و کد کننده هستند. اگزون (توالی بیان شونده) و به توالی‌های که ترجمه نمی‌شوند و فقط مورد رونویسی قرار می‌گیرند، اینترون (توالی مداخله گر) می‌گویند. اینترون‌ها نسبت به نواحی ژنی رمز کننده طول بزرگ تری را به خود اختصاص می‌دهند. حضور اینترون یا بخشی از آن در کنار یک ژن می‌تواند سبب تغییر در سطح بیان ژن و حتی افزایش آن تا ۵۰۰ برابر شود. حضور جایگاه‌های مؤثر در فرایند پلی‌آدنیلایسون در اینترون به خصوص اینترون انتهایی ژن از دیگر دلایل تأثیر اینترون در بیان ژن است. مزایا و فعالیت‌های متعدد دیگری را نیز به

اینترون‌ها نسبت می‌دهند. از جمله می‌توان به نقش آن‌ها در خروج مولکول‌ها از هسته و افزایش پایداری mRNA در سیتوپلاسم اشاره نمود (۴۰،۳۹). اینترون‌ها در هسته ضمن پدیده‌ای به نام پیرایش (Splicing) حذف می‌گردند و برای تشکیل RNA‌های علاوه بر حذف، باید اگزون‌های ابتدا و انتهای آن به یکدیگر متصل شوند. پیرایش RNA به دو صورت خود پیرایشی (Self-splicing) یا با دخالت RNA‌های کوچک هسته‌ای (snRNA) انجام می‌گردد. از آنجایی که مکانیسم خود پیرایشی اینترون‌ها شبیه به پیرایش اینتئین‌ها می‌باشد. در اینجا فقط برای درک بهتر ویرایش اینتئین‌ها خود پیرایشی اینترون‌ها نیز توضیح داده می‌شود (۴۱). خود پیرایشی پدیده‌ای است که بیش تر در عده‌ای از یوکاریوت‌ها انجام می‌گیرد. مهم‌ترین ویژگی این پدیده این است که ضمن انجام آن، نیاز به آنزیم خاص ندارد و به توالی‌های درون اینترون وابسته است (۴۲).

پیرایش اینترون‌ها در سلول‌های یوکاریوت به چند دسته تقسیم می‌شوند که در میان این روش‌ها دو دسته مهم وجود دارد که بدون استفاده از هر گونه فاکتورهای کمکی عمل پیرایش را انجام می‌دهند. دسته اول که با نام خود پیرایشی اینترون‌های گروه I شناخته می‌شوند به یون منیزیم و یک گوانوزین به عنوان عامل کوفاکتور نیاز دارند. برای انجام خود پیرایشی، ابتدا قسمت غنی از پیریمیدین با توالی CUCUCU که در قسمت ۵' اگزون قرار دارد، با توالی مکمل خود بر روی اینترون جفت می‌شود. در اثر این جفت شدن دو انتهای اینترون در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرد؛ همچنین در قسمت ۳' اگزون، یک ناحیه مکمل با توالی موجود در درون اینترون که ناحیه ۵' اگزون به آن متصل شده است، وجود دارد که می‌تواند با این توالی جفت شود؛ بنابراین ضمن عمل پیرایش، بخش‌های مختلفی از RNA در مجاورت هم قرار می‌گیرند و با پیوندهای هیدروژنی بازها به یکدیگر متصل می‌شوند. پس از این اتصال اولیه طی دو واکنش

ترانس استریفیکاسیون عمل خود پردازشی انجام می گیرد. این واکنش ها یکی در جایگاه پردازش ۵' و دیگری با حمله باز انتهای ۵' اگزون که یک یوریدین است. به جایگاه پردازش ۳' صورت می گیرد و به این ترتیب اینترون حذف شده و دو اگزون از طرفین به یکدیگر متصل می شوند (۴۴،۴۳). دسته دوم که خود پیرایشی اینترون های گروه II نامیده می شوند به کوفاکتور منیزیم و بر خلاف دسته اول به اسپرمیدین به جای گوانوزین نیاز دارند. این پیرایش با دخالت یک بخش سنجاق سری داخل اینترون انجام می گیرد و در نهایت موجب حذف اینترون و اتصال دو اگزون موجود در طرفین اینترون می گردد. در پدیده خود پیرایشی تعدادی از پیوندهای فسفودی استر شکسته شده و سپس دوباره تشکیل می گردد و بنابراین نیازی به انرژی اضافی و مصرف ATP ندارد. طی این پدیده ساختاری، کمان (Lariat) مانند ایجاد می گردد و بقیه مراحل مثل پیرایش گروه I می باشد (۴۵). امروزه مشخص شده است که فرآیند پیرایش مخصوص RNA

نیست، بلکه روی بعضی از پروتئین ها نیز انجام می گیرد. پیرایش در پروتئین ها شامل برش اختصاصی در دو انتهای بخش غیر عملکردی پروتئین و خارج کردن آن از میان بخش های عملکردی پروتئین است. مولکول های mRNA و پروتئین ها اگرچه از نظر واحد سازنده و پیوندهای تشکیل دهنده کاملاً متفاوت هستند، ولی فرایند پیرایش در این دو می تواند از نظر نحوی عملکرد شباهت هایی داشته باشد که به طور خلاصه می توان آن را در تصویر شماره ۳ ملاحظه کرد. اینترون ها توالی های تداخلی هستند که قبل از ورود mRNA به مرحله ای ترجمه از RNA اولیه خارج می شوند. اینتئین ها مانند اینترون ها توالی های تداخلی می باشند که در mRNA ی بالغ وجود دارند، ولی برخلاف اینترون ها که قبل از ترجمه حذف می گردند ترجمه شده و در پروتئین نابالغ وجود دارند؛ بنابراین برخلاف پیرایش RNA که یک فرایند پس از رونویسی است. پیرایش پروتئین ها جزء تغییرات پس از ترجمه می باشد (۴۶،۴۷،۴۴).

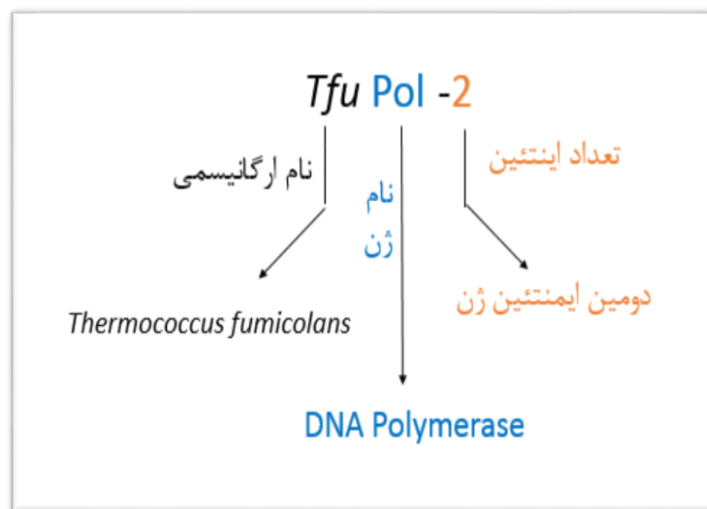


تصویر شماره ۳: تصویری شماتیک از مقایسه پردازش اینترون و اینتئین

همانطور که در تصویر مشاهده می شود فرآیند پردازش اینترون قبل از ترجمه ولی پردازش اینتئین بعد از ترجمه به پروتئین صورت می گیرد.

پروتئین را می‌آورند. چنانچه بیش از یک اینتئین درون پروتئین وجود داشته باشد، برای جداسازی از شماره گذاری استفاده می‌کنند (۴۸،۴۷) (تصویر شماره ۴).

نحوه نام گذاری اینتئین‌ها بر اساس موجود زنده و ژنی که در آن مورد شناسایی قرار گرفته اند، انجام می‌پذیرد. بدین صورت که ابتدا نام ارگانسیم سپس نام



تصویر شماره ۴: نحوه نام گذاری اینتئین‌ها

Tfu Pol-2: نشان دهنده دومین اینتئین مورد شناسایی در ژن DNA پلیمرز باکتری *Thermococcus fumicolans* می‌باشد.

در پروسه پیرایش است؛ همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود. اینتئین‌ها در تمامی اعضاء هر ۳ قلمرو حیاتی: پروکاریوت‌ها، یوکاریوت‌ها و آرکی‌ها مشاهده شده است؛ همچنین اینتئین‌ها در ویروس‌ها، باکتری‌ها و فاژها مشاهده شده است (۵۰).

جدول شماره ۱: تعداد اینتئین‌ها شناسایی شده در هر ۳ قلمرو حیاتی و مقایسه تعداد شناسایی شده در سال ۲۰۰۲ و ۲۰۱۱ (آخرین به روز رسانی)

تعداد سویه‌ها		تعداد اینتئین‌ها		
۲۰۱۱	۲۰۰۲	۲۰۱۱	۲۰۰۲	
۷	۷	۵۲	۲۰۱۱	قلمرو حیاتی
۷	۷	۱۰۲	۲۰۱۱	یوکاریوت
۲۵	۴۴	۱۰۶	۲۳۸	باکتری‌ها
۱۶	۷۹	۳۹	۱۳۱	آرکی‌ها

به اینتئین‌های که در ارگانسیم‌های مختلف، ولی در یک پروتئین خاص قرار دارند، اینتئین آلل می‌گویند. به طور مثال اینتئین Tag pol-3 (*Thermococcus aggregans*) با اینتئین Tfu Pol-2 (*Thermococcus fumicolans*) باکتری به صورت اینتئین آلل می‌باشد که هر دو در ژن DNA پلیمرز قرار دارند (۴۹).

بیش از ۵۰۰ اینتئین در پروتئین‌های مختلف تا سال ۲۰۱۱ (آخرین به روز رسانی) در پایگاه اطلاعاتی اینتئین به نام InBase به آدرس اینترنتی <http://www.neb.com/neb/inteins.html> شناخته شده است. اینتئین‌ها طولی بین ۱۳۴ تا ۶۰۸ اسید آمینه دارند و با مقایسه انواع اینتئین‌ها مشخص شده است که بیش تر اینتئین‌ها از توالی سیستئین یا سرین در قسمت N-ترمینال و آسپارژین در قسمت C-ترمینال تشکیل شده است؛ همچنین در این قسمت قبل از اسید آمینه آسپارژین اسید آمینه هیستیدین وجود دارد. اسید آمینه‌های حفاظت شده در این قسمت‌ها نشان دهنده اهمیت آن‌ها

ایننتین ها به دو دسته بزرگ (Large) و کوچک (Mini) تقسیم می شوند. بیش تر ایننتین های موجود که تا به امروز گزارش شده اند، شامل دو بخش هستند. ۱- بخش خود پیرایشی؛ ۲- بخش اندونوکلئازی.

ایننتین های که هر دو قسمت خود پیرایشی و اندونوکلئازی را داشته باشند. ایننتین های بزرگ، گفته می شود. قسمت N- ترمینال و C- ترمینال این دسته از ایننتین ها شامل موتیف های مورد نیاز برای فعالیت خود پیرایشی هستند. قسمت اندونوکلئازی نقش مهمی در جداسازی ایننتین ها و جا به جایی آن ها بر عهده دارد. دسته دیگر ایننتین ها که به عنوان ایننتین های کوچک تقسیم بندی می شوند، فقط دارای بخش مورد نیاز برای خود پیرایشی هستند (۵۱).

ایننتین ها با داشتن بخش اندونوکلئازی قادر به حرکت و جا به جایی هستند؛ بنابراین جزء عناصر ژنتیکی متحرک می باشند. ایننتین ها توسط قسمت اندونوکلئازی خود در نزدیکی محل وارد شدن در DNA دو رشته ای که فاقد ایننتین است، ایجاد شکست می نمایند. درون ژن هدف توالی بین ۲۰ تا ۴۰ نوکلئوتیدی وجود دارد که محل تشخیص اندونوکلئاز موجود در ایننتین می باشد. بعد از ورود توالی ایننتین به داخل ژن دیگر این قسمت توسط اندونوکلئازها قابل شناسایی نخواهد بود. به همین دلیل فقط ژن های فاقد ایننتین می توانند عمل شناسایی و ورود بر روی آن ها صورت بگیرد (۵۲).

خود پیرایشی ایننتین ها و به عبارت دیگر پردازش پروتئین ها جزء تغییرات پس از ترجمه می باشند که طی آن یک توالی پلی پپتیدی (ایننتین) بدون دخالت هیچ گونه آنزیمی جدا شده و توالی های اطراف این پلی پپتید به یکدیگر متصل می گردند. پیش از حذف ایننتین ها از پروتئین مورد نظر، این پروتئین ها شکل اصلی خود را دارا نیستند و منحصراً پس از حذف ایننتین ساختار و

عملکرد اصلی خود را پیدا می کنند. پیرایش ایننتین ها پروسه ای سریع است که بدون حضور کوفاکتور خاصی توسط واکنش های داخل مولکولی طی ۴ مرحله صورت می گیرد (۵۳).

مطالعات زیادی در مورد پردازش پروتئین به صورت برون تنی (In vitro) صورت گرفته است که نتایج این آزمایشات نشان می دهد که پردازش پروتئین از طریق اسیدهای آمینه موجود در ایننتین کاتالیز می شوند، پردازش پروتئین یک پروسه درون مولکولی است و اینکه پردازش پروتئین به هیچ کوفاکتور و منبع انرژی متابولیکی احتیاج ندارد و بنابراین کلیه جداسازی ها و اتصالات از طریق سنتز مجدد صورت می گیرد (۵۴-۵۶).

فرایند جداسازی ایننتین از پروتئین نابالغ به این صورت است که در مرحله اول یک جا به جای بین اتم های N-O (چنانچه اولین اسید آمینه سرین باشد) و یا جا به جایی بین اتم های N-S (اگر اولین اسید آمینه سیستئین باشد) شروع می شود. این جا به جایی سبب ایجاد پیوند تیواستر بین N- ترمینال اکستئین / ایننتین می شود (تصویر شماره ۵-الف). در مرحله دوم پیوند تیواستری موجود در گروه OH⁻ یا SH⁻ به اولین اسید آمینه در سر C- ترمینال حمله می کند (سیستئین- سرین یا ترئونین) که این حمله باعث ایجاد یک ترنس استریفیکیشن (Transesterification) می شود که سبب انتقال قسمت N- اکستئین در مجاورت C- اکستئین می گردد (تصویر شماره ۵-ب). وجود آسپارژین در انتهای C- ترمینال در مرحله سوم سبب آزاد شدن ایننتین و اتصال اکستئین ها به وسیله پیوند تیواستر می شود (تصویر شماره ۵-ج) و در نهایت بازارایی پیوند تیواستر به پیوند پپتیدی به وسیله جا به جایی بین اتم های S-N و یا O-N صورت گرفته و فرآیند کامل گشته و ایننتین از پروتئین جدا می شود (۵۱، ۵۷، ۵۸) (تصویر شماره ۵-د).

[illegible]

The diagram illustrates the chemical structure of a protein and the mechanism of a chemical shift reagent (CSR) binding to a specific amino acid residue.

Top Left: A chemical structure of a protein segment. The N-terminus is labeled "اکستین-N" (N-terminal) and the C-terminus is labeled "اکستین-C" (C-terminal). The central part of the structure is labeled "پپتید" (peptide). The structure shows a backbone with side chains, including a thiol group (-SH) and a carboxyl group (-COOH).

Top Right: A chemical structure of a CSR (Chemical Shift Reagent) molecule. It is labeled "اکستین-N" (N-terminal) and "اکستین-C" (C-terminal). The structure shows a backbone with side chains, including a thiol group (-SH) and a carboxyl group (-COOH).

Bottom: A chemical structure of a protein segment showing the binding of a CSR to a specific amino acid residue. The CSR is labeled "اکستین" (peptide). The binding is indicated by a red arrow pointing to the thiol group (-SH) of the Cysteine (Cys) residue. The structure also shows the N-terminus (H₂N) and the C-terminus (COOH).

پیرایش اینتئین ها و جداسازی آن ها از پروتئین میزبان خود طی ۴ مرحله صورت می گیرد.

امروزه پروتئین هایی که پیرایش خود را به واسطه اینتئین انجام می دهند، به یک ابزار ضروری در بیوتکنولوژی مدرن تبدیل شده اند (۵۹). پیشرفت های بنیادی در ساختار و استراتژی های جدا شدن اینتئین منجر به گسترش و بهبود اینتئین ها گردید که سبب کاربرد فراوان آن ها در بیوتکنولوژی از جمله تخلیص، اتصال (Ligation) و بهبود پروتئین ها شده است. کارهای اخیر نشان از گسترش کاربرد استفاده از اینتئین در شرایط آزمایشگاهی و برون تنی (In vivo) سلول و ارگانیسم ها دارد (۵۵، ۶۰، ۶۱).

بعضی از اینتئین ها به صورت دو قسمتی و جدا از هم می باشند که برای انجام عمل پیرایش باید دو قطعه به یکدیگر متصل شوند. به این دسته از پیرایش ها، پیرایش ترانس پروتئین (Protein Trans Splicing) گفته می شود که به صورت طبیعی یا مهندسی شده در بیوتکنولوژی از آن استفاده می کنند (۵۹). هر دو پیرایش ترانس و سیس، اینتئین ها را به صورت مهندسی می توان غیر فعال کرد و سپس تحت شرایط خاص آن ها را دوباره فعال نمود تا عمل پیرایش صورت گیرد. به این دسته از پیرایش ها، پیرایش شرطی پروتئین (Conditional Protein Splicing) گفته می شود. CPS ها برای فعال شدن عمل پیرایش در خود نیاز به یک راه انداز (Trigger) دارند که معمولاً از تغییر در pH، دما، شرایط اکسیداسیون و احیا، اضافه کردن یک مولکول و یا تاباندن نور استفاده می نمایند (۶۴-۶۲). برای CPS در پیرایش ترانس پروتئین ها معمولاً از یک مولکول کوچک و یا دمین با قدرت اتصال بالا به منظور کنار هم قرار دادن قطعات اینتئین استفاده می کنند. در واقع با این کار پیرایش و جداسازی اینتئین را فعال می کنند (۶۵، ۶۶). اتصال پروتئین بیان شده EPL (Expression Protein Ligand) روشی است که در آن C-ترمینال پروتئین نوترکیب مورد اصلاح قرار گرفته است و از این ناحیه به یک اینتئین متصل می شود. این

اتصال سبب ایجاد پیوند تیواستر ما بین اینتئین و پروتئین می شود (تشکیل C-اکستئین)، سپس پروتئین به زنجیره جانبی پلی پپتیدی که N-ترمینال آن اسید آمینه سیستئین متصل است، انتقال می یابد (۶۷). EPL ها شبیه به اتصال دهنده های شیمیایی می باشند که قادرند یک پپتید سنتزی کوچک، دارای C-ترمینال تیواستر را به یک پپتید که N-ترمینال آن اسید آمینه سیستئین است، متصل نمایند. در بیش تر روش های EPL قطعات متصل شونده هیچ میلی به یکدیگر ندارند و یک سد آنتروپیک ایجاد می کنند و اگر دارای تمایل به یکدیگر باشند، بر این سد آنتروپیک غلبه خواهند کرد (۶۸، ۶۹).

روش های نوین بیوتکنولوژی مبتنی بر اینتئین می توانند به منظور اصلاح توالی یا ساختار پروتئین های نوترکیب که شامل ایجاد حلقه (Cyclization) یا پلیمریزاسیون، ایجاد پروتئین های نوترکیب با N-ترمینال طبیعی استفاده شوند؛ همچنین اینتئین ها می توانند به منظور تولید پروتئین های سمی و بزرگ از داخل یک چهار چوب خواندن (Frame Reading) به کار روند که پس از فرایند ترجمه می توانند از این قطعه بزرگ تولید پپتیدهای کوچک نمایند (۷۰، ۷۱).

از دیگر کاربردهای اینتئین در بیوتکنولوژی می توان به حلقوی نمودن پروتئین ها و پپتیدها اشاره کرد که این عمل به وسیله اینتئین به دو روش صورت می گیرد. در روش اول حلقه می تواند از طریق دو اینتئین متفاوت که یکی از آن ها در ابتدای N-ترمینال و دیگری در انتهای C-ترمینال پروتئین مورد نظر قرار گرفته، ایجاد شود. در واقع پروتئین مورد نظر که قرار است، حلقوی شود ما بین این دو اینتئین قرار می گیرد. با ایجاد شکست در C-ترمینال قطعه N-اینتئین/هدف یک پروتئین حاوی اسید آمینه سیستئین در انتهای N-ترمینال تولید می گردد. سیستئین ایجاد شده در اثر واکنش با یک تیواستر فعال که توسط EPL در ناحیه انتهای پروتئین (C-ترمینال) که به اینتئین دیگری متصل بوده تولید شده است،

ایجاد پروتئین حلقوی می نماید. باید این نکته را مورد توجه قرار داد که پروتئین یا پپتید هدف باید ما بین N و C دو تیکه اینتئین قرار گیرد. وارونه شدن محل قرارگیری قطعات C و N اینتئین در پیش ماده (IC-پروتئین- I_N) اطمینان می دهد که PTS باعث اتصال قطعات پلی پپتیدی داخلی می شود. حلقه شدن پروتئین هدف باعث افزایش پایداری فعالیت زیستی می شود. پیرایش اینتئین و جداسازی آن از پروتئین هدف باعث حلقوی شدن پروتئین مورد نظر ما می شود. یکی از جالب ترین کاربردهای حلقه نمودن پروتئین ها به واسطه اینتئین، تولید کتابخانه های بزرگ در شرایط درون تنی است که به صورت ژنتیکی پپتیدهای حلقوی، برای غربالگری با بازدهی بالا کد می نمایند. در روش دوم از یک اینتئین جدا شده برای تولید یک پروتئین یا پپتید استفاده می نمایند. پروتئین یا پپتید هدف به عنوان یک فیوژن بین دو قطعه N و C قرار می گیرد و بیان می شود. واژگونی محل قطعات N و اتصال شان به یکدیگر سبب به وجود آمدن یک پروتئین حلقوی می شود و سپس از طریق شرایطی خاص (PTS) اینتئین جدا شده و پروتئین و یا پپتید به صورت حلقوی به یکدیگر متصل می شوند (۷۲، ۷۳).

توانایی کنترل و شرطی کردن پیرایش پروتئین ها این توانایی را به محققین می دهد که از اینتئین، برای تخلیص سریع پروتئین های نوترکیب استفاده نمود. نشانه های تمایلی (Tag Affinity) به صورت رایج برای تخلیص پروتئین های نوترکیب استفاده می شوند که می توان به نشانه پروتئین متصل شونده به مالتوز باکتری اشریشیاکلی (*E. coli*)، نشانه GST و نشانه هیستیدین اشاره نمود. به کار بردن این نشانه ها ممکن است در ساختار و یا فعالیت پروتئین تداخل ایجاد نماید؛ همچنین باید در پایان پروسه تخلیص با استفاده از پروتئین ها این نشانه را حذف کرد که خود پروتئین را باید از طریق کروماتوگرافی از محلول خارج نمود که در نهایت باعث افزایش هزینه و مراحل تخلیص می شود. به

علاوه اینکه بیش تر پروتئین ها غیر اختصاصی باعث برش ناقص در محصول می شوند و به طور کامل سبب حذف نشانه از پروتئین نمی شوند.

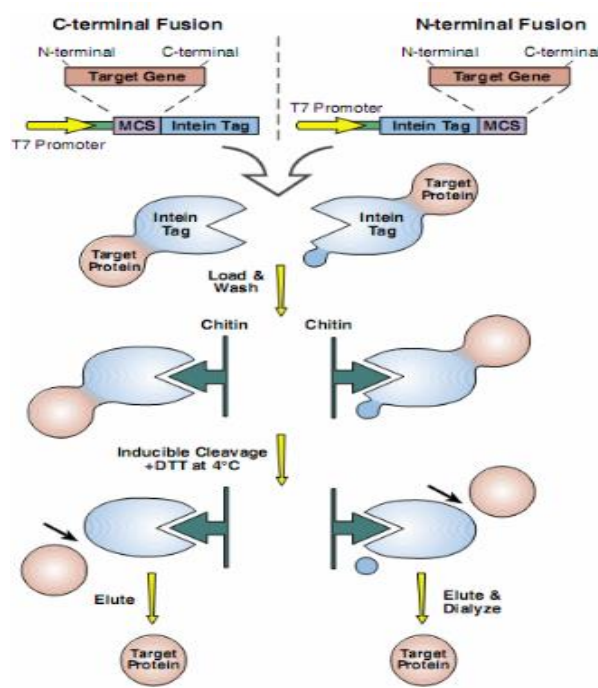
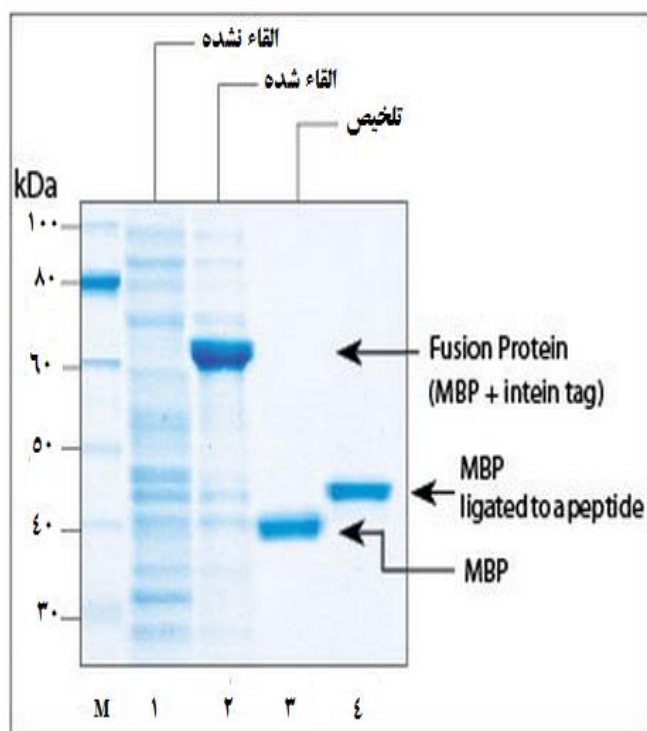
پروتئین های نوترکیب بیان شده در اشریشیاکلی می تواند به شکل محلول تولید شوند، اما در بسیاری از موارد به ویژه در سطح بالای بیان، این پروتئین ها با هم تجمع می کنند و تشکیل اجسام نامحلول (Insoluble Inclusion Body) را می دهند. استراتژی تخلیص، بستگی به نوع پروتئین بیانی (محلول یا نامحلول) دارد. بعد از بیان پروتئین که در یک سمت آن نشانه مورد نظر ما وجود دارد، ستون تمایلی مناسب بر اساس نشانه به منظور تخلیص انتخاب می گردد. به طور مثال اگر نشانه هیستیدین باشد، از ستون آگارز نیکل به منظور جدا سازی استفاده می گردد. محلول حاوی پروتئین را بر روی ستون ریخته تا بر اساس میل ترکیبی که بین هیستیدین و نیکل وجود دارد، پروتئین به ستون متصل شود؛ سپس از بافرهای مناسب که باعث شستشو پروتئین هایی که به اشتباه متصل شده اند استفاده می گردد. در آخر از بافرهای جدا کننده به منظور استخراج و استحصال پروتئین هدف از ستون استفاده می شود. جداسازی را می توان بر اساس pH یا بر اساس یک عامل رقابتی مثل شیب غلظت ایمیدازول انجام داد (۷۴-۷۷). بعد از جدا سازی پروتئین همانطور که ذکر گردید برای جدا شدن نشانه از پروتئین از آنزیم پروتئاز استفاده می گردد.

اینتئین به منظور تخلیص پروتئین توسط کمپانی نیوانگلند (New England Biolabs, Beverly, Massachusetts) با عنوان سیستم IMPACT® تجاری سازی گردیده است (تصویر شماره ۶).

در این سیستم از اینتئین که به یک دمین اتصال یافته کیتین (Chitin-binding domain) به عنوان نشانه متصل شده است، استفاده می گردد. این سیستم سبب حذف استفاده از پروتئاز به منظور جدا سازی نشانه از پروتئین می گردد. مسئله کلیدی در سیستم های که به واسطه اینتئین سبب تخلیص پروتئین می شود، به حداقل

کیتینی متصل گردد. به منظور جدا سازی پروتئین های ناخواسته که به ستون متصل شده است از محلول های شستشو استفاده می گردد. جدا سازی پروتئین از ستون طی یک مرحله صورت می گیرد که برای این منظور از بافر ۵۰ میلی مولار دی تیوتریتول (بسته به نوع نشانه محلول جدا سازی فرق می کند) در دمای ۲۳-۴ درجه به مدت ۱۶ تا ۴۰ ساعت استفاده می گردد که باعث شکست ما بین اینتئین و پروتئین هدف و در نهایت سبب تخلیص پروتئین مورد نظر می گردد. در واقع با استفاده از این روش ضمن تخلیص پروتئین، نشانه نیز به صورت همزمان حذف می گردد (۷۹).

رساندن میزان شکست خود به خودی در هنگام تخلیص پروتئین و به حداکثر رساندن واکنش برش هنگام تخلیص است (۷۸،۶۰،۴۸). روش کار تقریباً شبیه به روش تولید پروتئین های نو ترکیب در باکتری اشریشیا کلی می باشد. با این تفاوت که از آنزیم لیزوزیم به منظور لیز کردن سلولی استفاده نمی شود. به این دلیل که باعث جدا شدن اینتئین متصل به دمین اتصالی کیتین می شود. به منظور اتصال CBD از ستون های حاوی بیدهای کیتین استفاده می گردد. بعد از بیان پروتئین و لیز سلولی، محلول حاوی پروتئین بر روی ستون ریخته می شود تا پروتئین هدف از طریق CBD به بیدهای



تصویر شماره ۶: تصویری شماتیک از نحوه کارکردن کیت IMPACT و مقایسه تخلیص پروتئین بیانی از طریق

این روش با روش نشانه تمایلی

برای اطلاعات بیش تر به سایت شرکت سازنده <https://www.neb.com> مراجعه شود.

(Synechocystis) و اینتئین ژن RecA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (*Mycobacterium tuberculosis*) به منظور خالص سازی پروتئین های نو ترکیب استفاده شده است (۸۳-۸۰).

تا به امروز از چندین اینتئین مختلف مانند اینتئین VMA Sce، اینتئین جیراز مایکوباکتریوم زنوبی (*Mycobacterium Xenopi*)، اینتئین ژن های DNA پلیمرز B و E باکتری های سینکوسیستیس

از اینتئین ها می توان جهت اتصال دادن یک پروتئین به یک دمین اتصال از بستر جامد برای ساخت ریز آرایه های پروتئینی (Protein microarray) یا تراشه های پروتئینی (Protein chip) استفاده نمود. برای مثال در یک نمونه، پروتئین های هدف دارای باند a-تیواستر با انجام واکنش با سیستم متصل به صفحه ی شیشه ای به وسیله ی پلی اتیلن گلیکول تثبیت و متصل شدند. در نمونه های دیگر بیوتین با استفاده از تکنیک EPL به پروتئین ها متصل شده و سپس پروتئین های حاوی بیوتین به سطوح جامد فعال شده با آویدین متصل می شوند. میکروتراشه های پروتئینی با استفاده از بارکدهای PNA تولید شدند تا با جایگاه های ویژه ای روی تراشه هیبرید شوند. تست هایی که اتصال ویژه به یک پپتید را بررسی می کنند، معمولاً به دلیل عدم توانایی اتصال پپتیدها به یک سطح پشتیبان جامد شکست می خورند. با استفاده از EPL برای اتصال پپتیدها به پروتئین های حاملی که ویژگی های اتصال مناسب و واکنش پذیری پایینی با آنتی بادی دارند، این مانع از سر راه برداشته شده است. این تکنیک برای ساخت ریز آرایه های پپتیدی و برای انجام آزمون فسفریلاسیون و در ادامه خوانش و سترن بلات روی سوبستراهای دارای جایگاه های فسفریلاسیون برای c-Src پروتئین تیروزین کیناز یا Abl پروتئین تیروزین کیناز استفاده می شود (۸۴).

کاربردهای اینتئین در بیوتکنولوژی فقط به همین چند مورد خلاصه نمی شود و هر روزه شاهد استفاده جدیدی از این تکنیک در مقالات محققین هستیم که به صورت خیلی گذرا به تعداد دیگری از کاربردهای اینتئین در بیوتکنولوژی می پردازیم. یکی از کاربردهای جالب از اینتئین ها ایجاد فناوری Tadpole و استفاده از آن در شناسایی و تعیین کمیت مولکول های کوچک است. به طور مثال برای شناسایی ژنتیکی رفتار سلول ها نیاز به شناسایی مقدار تغییرات در سطح مولکول های تنظیمی هستیم که با روش های معمول نمی توان به این مهم دست یافت و یا شناسایی مراحل اولیه در بیماری ها نیاز به

شناسایی تغییرات کوچک در سطح مولکول های زیستی است (۸۵). از جمله کاربردهای دیگر اینتئین ها در بیوتکنولوژی می توان شناسایی ارتباطات بین پروتئین با پروتئین، ردیابی متیلاسیون DNA در تنظیم بیان ژن های یوکاریوت، ردیابی فعالیت پروتئینها رساندن ژن های ترانس به موجودات دیگر مانند گیاهان، سلول های پستانداران مانند موش و موارد بی شمار دیگری اشاره نمود (۹۰-۸۶).

بحث:

فرآورده های بیوتکنولوژی امروزه به یکی از مهم ترین صادرات کشورهای توسعه یافته تبدیل شده است و منابعی اقتصادی که از این فناوری به دست می آید، می تواند باعث پیشرفت و سلطه آن ها بر دیگر کشورهای جهان شود. فرآورده های حاصل از این روش، به کالاهای استراتژی تبدیل شده است که دلیل این گواه وابسته بودن اکثر کشورهای دنیا به فرآورده های دارویی کشورهایی است که می توانند آن ها را تولید نمایند؛ بنابراین پیشرفت در این علم بالاخص در زمینه علوم پایه به نحوی که بتواند مولد کاربردها زیادی باشند، بسیار حائز اهمیت است. یکی از پیشرفت های جدید در زمینه علوم پایه که کاربرد فراوانی در بیوتکنولوژی نیز دارد، شناسایی عناصری به نام اینتئین در داخل پروتئین ها است.

اینتئین پروتئین ها عناصر ژنتیکی هستند که علاوه بر رونویسی مورد ترجمه هم قرار می گیرند و فقط در سطح خود پروتئین است که از آن جدا شده و پروتئین را به حالت بالغ و دارای عملکرد تبدیل می نمایند و در واقع سبب پردازش پروتئین ها می گردند. اولین بار اینتئین در سال ۱۹۹۰ درون یوکاریوت ساکرومایسس سرویزیه مورد شناسایی قرار گرفت، ولی این عناصر مختص رده خاصی نمی شوند و در تمامی رده ها مانند یوباکترها، آرکی ها و فاژها و ویروس ها وجود دارند، اما تا آخرین به روز رسانی پایگاه اطلاعاتی اینتئین (In Base) در ژن ها و یا ژنوم انسان گزارشی از وجود اینتئین ها

آخرین مرحله می باشد، باز آرای پیوند تیواستر به پیوند پپتیدی است که به وسیله شیف بین اتم های S-N و یا O-N می باشد. از زمان شناسایی اینتئین پروتئین ها و نقش آن ها در داخل پروتئین، استفاده از این پروتئین ها به صورت طبیعی و مصنوعی به سرعت به عنوان یک روش جدید در بیوتکنولوژی گسترش پیدا کرد. خاصیت جدا شدن اینتئین ها از پروتئین هدف این امکان را می دهد که از آن ها به توان در زمینه های متفاوت مانند مهندسی پروتئین، تخلیص پروتئین ها، اتصال به سطوح و غیره استفاده نمود.

نتیجه گیری:

هدف از نگارش این مقاله مروری در ابتدا آشنایی با بیوتکنولوژی و کاربردهای آن به صورت مختصر و سپس آشنایی با عناصر ژنتیکی به نام اینتین و کاربردهای آن در بیوتکنولوژی است. نکته ای که از این مقاله به دست می آید، این است که با پیشرفت در زمینه علوم پایه و کشف موارد جدید می توان از آن ها در زمینه بیوتکنولوژی که در واقع علم محصول محور است، استفاده نمود و می توان سبب پیشرفت کشور و قطع وابستگی به صادرات نفتی شد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند تقدیر و تشکر می گردد.

منتشر نشده است. اینتئین ها طولی بین ۱۳۴ تا ۶۰۸ اسید آمینه دارند و با مقایسه انواع اینتئین ها مشخص شده است که بیش تر اینتئین ها از توالی سیستئین یا سرین در قسمت N- ترمینال و آسپارژین در قسمت C- ترمینال تشکیل شده است؛ همچنین در این قسمت قبل از اسید آمینه آسپارژین اسید آمینه هیستیدین وجود دارد. اسید آمینه های حفاظت شده در این قسمت ها نشان دهنده اهمیت آن ها در فرایند پیرایش است. در این فرایند چند نکته حائز اهمیت است. پردازش پروتئین ها از طریق اسیدهای آمینه موجود در اینتئین کاتالیز می شوند، یک پروسه درون مولکولی است و اینکه به هیچ کوفاکتور و منبع انرژی متابولیکی احتیاج ندارد. پیرایش اینتئین ها پروسه ای سریع و داخل مولکولی است که طی ۴ مرحله صورت می گیرد. در مرحله اول شیف بین اتم های N-O و یا اتم های N-S صورت می گیرد که سبب ایجاد پیوند تیواستر بین N- ترمینال اکستئین / اینتئین می شود. در مرحله بعدی پیوند تیواستری به وسیله گروه OH^- یا SH^- به اولین اسید آمینه در سر C- ترمینال حمله می کند که این حمله باعث ایجاد یک ترنس استریفیکیشن می گردد که سبب انتقال قسمت N- اکستئین در مجاورت C- اکستئین می شود. در مرحله سوم به دلیل وجود آسپارژین که در انتهای C- ترمینال قرار دارد، سبب آزاد شدن اینتئین و اتصال اکستئین ها به وسیله پیوند تیواستر می گردد و در نهایت در مرحله چهارم که

منابع:

1. Judge LR. Biotechnology: Highlights of the science and law shaping the industry. Santa Clara Comp and High Tech LJ. 2003; 20(1): 79.
2. Gupta P. Elements of biotechnology. India: Rastogi Pub; 1994.
3. Wagiran A. Introduction to Biotechnology. J Technol. 2013; 64 (2).
4. Nollert M. Biotechnology in the European Union: A case study of political entrepreneurship. State-Building in Europe: The Revitalization of Western European Integration. London: Cambridge University Press, Cambridge; 2000: 210-43.
5. Mohanty S. Biotechnology and Indian Economy. Availabe from: www.odisha.gov.in/e-magazine/Orissareview/.../Biotechnology.pdf.
6. Assessment USCOOT. Biotechnology in a Global Economy: Office of Technology Assessment. Washington, DC: USA: Government Printing Office; 1991.
7. Wartenberg A. Introduction to biotechnology. Germany: Gustav Fischer Verlag; 1989.

8. Niemeyer CM. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angew Chem Int Ed*. 2001; 40(22): 4128-58.
9. Sharma SS, Chong S, Harcum SW. Intein-mediated protein purification of fusion proteins expressed under high-cell density conditions in *E. coli*. *J Biotechnol*. 2006; 125(1): 48-56.
10. Derbyshire V, Wood DW, Wu W, Dansereau JT, Dalgaard JZ, Belfort M. Genetic definition of a protein-splicing domain: functional mini-inteins support structure predictions and a model for intein evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(21): 11466-71.
11. Kane PM, Yamashiro CT, Wolczyk DF, Neff N, Goebel M, Stevens TH. Protein splicing converts the yeast TFP1 gene product to the 69-kD subunit of the vacuolar H(+)-adenosine triphosphatase. *Science*. 1990; 250(4981): 651-7.
12. Bud R. *The uses of life: A History of Biotechnology* Cambridge University Press. UK: Cambridge; 1993.
13. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol*. 2000; 61(9): 863-6.
14. Hugenoltz J. Traditional biotechnology for new foods and beverages. *Curr Opin Biotechnol*. 2013; 24(2): 155-9.
15. Strohl WR. *Biotechnology of antibiotics. Drugs and the pharmaceutical sciences (USA)*; 1997.
16. Goeddel DV, Kleid DG, Bolivar F, Heyneker HL, Yansura DG, Crea R, et al. Expression in *Escherichia coli* of chemically synthesized genes for human insulin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979; 76(1): 106-10.
17. Cohen SN, Chang AC, Boyer HW, Helling RB. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973; 70(11): 3240-4.
18. Bauer MW. Distinguishing red and green biotechnology: Cultivation effects of the elite press. *Int J Public Opin Res*. 2005; 17(1): 63-89.
19. Bauer MW. Controversial medical and agri-food biotechnology: a cultivation analysis. *Public Underst Sci*. 2002; 11(2): 93-111.
20. Lorenz P, Zinke H. White biotechnology: differences in US and EU approaches? *Trends Biotechnol*. 2005; 23(12): 570-4.
21. Nabavi SF, Nabavi SM, Latifi AM, Eslami S, Ebrahimzadeh MA. Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012; 88(3): 401-5.
22. DaSilva EJ. The Colours of Biotechnology: Science, Development and Humankind. *Electron J Biotechno*. 2005; 7(3): 67-9.
23. Siro I, Kapolna E, Kapolna B, Lugasi A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance--a review. *Appetite*. 2008; 51(3): 456-67.
24. Vilcinskas A. *Insect biotechnology*: Springer; 2011.
25. Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, Howells RM, Kennedy MJ, Vernon G, et al. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nat Biotechnol*. 2005; 23(4): 482-7.
26. Heneric O, Engel D, Champenois C. *The Birth of German Biotechnology Industry: Did Venture Capital run the Show?* ZEW Discussion Papers, 2004.
27. Kafarski P. Teczowy kod biotechnologii. *Chemik*. 2012; 66(8): 811-6.
28. DaSilva EJ, Baydoun E, Badran A. Biotechnology and the developing world. *Electron J Biotechno*. 2002; 5(1): 1-2.
29. Platais KW, Collinson MP. Biotechnology and the developing world. Finding ways to bridge the agricultural technology gap. *Finance Dev*. 1992: 34-6.
30. Nestle M. *Safe food: Bacteria, biotechnology, and bioterrorism*. USA: Univ of California Press; 2003.
31. Koch I, Fuellen G. A review of bioinformatics education in Germany. *Brief Bioinform*. 2008; 9(3): 232-42.
32. Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearb Med Inform*. 2001; 1: 83-99.
33. Cappello J, Crissman J, Dorman M, Mikolajczak M, Textor G, Marquet M, et al. Genetic engineering of structural protein polymers. *Biotechnol Prog*. 1990; (3): 198-202.

34. Willmer EN. Cells and tissues in culture methods, biology and physiology: Elsevier; 2013.
35. Madigan MT, Martinko JM, Parker J, Brock TD. Biology of microorganisms. USA: Prentice hall Upper Saddle River, NJ; 1997.
36. Cereghino GP, Cereghino JL, Ilgen C, Cregg JM. Production of recombinant proteins in fermenter cultures of the yeast *Pichia pastoris*. *Curr Opin Biotechnol*. 2002; 13(4): 329-32.
37. Freshney RI. Animal cell culture: a practical approach. USA: IRL press Oxford; 1986.
38. Hirata R, Ohsumk Y, Nakano A, Kawasaki H, Suzuki K, Anraku Y. Molecular structure of a gene, VMA1, encoding the catalytic subunit of H(+)-translocating adenosine triphosphatase from vacuolar membranes of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*. 1990; 265(12): 6726-33.
39. Hawkins JD. Gene structure and expression. USA: Cambridge University Press; 1996.
40. Maclean N, Gregory SP, Flavell RA. Eukaryotic genes. Their structure, activity and regulation. London: Butterworths; 1983.
41. Lewin B, Zavallos HBV, Roig FG. Genes IX. Canada: Jones and Bartlett Pub; 2008.
42. Peters JK, Toor N. Group II intron lariat: Structural insights into the spliceosome. *RNA Biol*. 2015; 12(9): 913-7.
43. Schleif R. Genetics and molecular biology: Johns Hopkins University Press; 1993.
44. Dujon B. Group I introns as mobile genetic elements: Facts and mechanistic speculations-a review. *Gene*. 1989; 82(1): 91-114.
45. Keller EB, Noon WA. Intron splicing: A conserved internal signal in introns of animal pre-mRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984; 81(23): 7417-20.
46. Cooper AA, Stevens TH. Protein splicing: self-splicing of genetically mobile elements at the protein level. *Trends Biochem Sci*. 1995; 20(9): 351-6.
47. Perler FB, Davis EO, Dean GE, Gimble FS, Jack WE, Neff N, et al. Protein splicing elements: inteins and exteins--a definition of terms and recommended nomenclature. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22(7): 1125-7.
48. Perler FB. InBase: The intein database. *Nucleic Acids Res*. 2002; 30(1): 383-4.
49. Saves I, Eleaume H, Dietrich J, Masson JM. The thy pol-2 intein of *Thermococcus hydrothermalis* is an isoschizomer of PI-TliI and PI-TfuII endonucleases. *Nucleic Acids Res*. 2000; 28(21): 4391-6.
50. Pietrokovski S. Intein spread and extinction in evolution. *Trends Genet*. 2001; 17(8): 465-72.
51. Liu XQ. Protein-splicing intein: Genetic mobility, origin, and evolution. *Annu Rev Genet*. 2000; 34: 61-76.
52. Elleuche S, Poggeler S. Inteins, valuable genetic elements in molecular biology and biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010; 87(2): 479-89.
53. Paulus H. Protein splicing and related forms of protein autoprocessing. *Annu Rev Biochem*. 2000; 69: 447-96.
54. Mills KV, Lew BM, Jiang S, Paulus H. Protein splicing in trans by purified N- and C-terminal fragments of the *Mycobacterium tuberculosis* RecA intein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95(7): 3543-8.
55. Noren CJ, Wang J, Perler FB. Dissecting the Chemistry of Protein Splicing and Its Applications. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2000; 39(3): 450-66.
56. Xu MQ, Perler FB. The mechanism of protein splicing and its modulation by mutation. *EMBO J*. 1996; 15(19): 5146-53.
57. Gogarten JP, Senejani AG, Zhaxybayeva O, Olendzenski L, Hilario E. Inteins: Structure, function, and evolution. *Annu Rev Microbiol*. 2002; 56: 263-87.
58. Tori K, Dassa B, Johnson MA, Southworth MW, Brace LE, Ishino Y, et al. Splicing of the mycobacteriophage Bethlehem DnaB intein: identification of a new mechanistic class of inteins that contain an obligate block F nucleophile. *J Biol Chem*. 2010; 285(4): 2515-26.
59. Topilina NI, Mills KV. Recent advances in in vivo applications of intein-mediated protein splicing. *Mob DNA*. 2014; 5(1): 5.
60. Xu MQ, Evans TC, Jr. Purification of recombinant proteins from *E. coli* by engineered inteins. *Methods Mol Biol*. 2003; 205: 43-68.
61. Muir TW. Semisynthesis of proteins by expressed protein ligation. *Annu Rev Biochem*. 2003; 72: 249-89.

62. Volkmann G, Mootz HD. Recent progress in intein research: from mechanism to directed evolution and applications. *Cell Mol Life Sci.* 2013; 70(7): 1185-206.
63. Cheriyan M, Perler FB. Protein splicing: A versatile tool for drug discovery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009; 61(11): 899-907.
64. Vila-Perello M, Muir TW. Biological applications of protein splicing. *Cell.* 2010; 143(2): 191-200.
65. Mootz HD. Split inteins as versatile tools for protein semisynthesis. *Chembiochem.* 2009; 10(16): 579-89.
66. Flavell RR, Muir TW. Expressed protein ligation (EPL) in the study of signal transduction, ion conduction, and chromatin biology. *Acc Chem Res.* 2009; 42(1): 107-16.
67. Evans TC, Jr, Benner J, Xu MQ. Semisynthesis of cytotoxic proteins using a modified protein splicing element. *Protein Sci.* 1998; 7(11): 2256-64.
68. Muir TW, Sondhi D, Cole PA. Expressed protein ligation: a general method for protein engineering. *Proc Natl Acad Sci USA America.* 1998; 95(12): 6705-10.
69. Dawson PE, Muir TW, Clark-Lewis I, Kent SB. Synthesis of proteins by native chemical ligation. *Science.* 1994; 266(5186): 776-9.
70. Aboye TL, Camarero JA. Biological synthesis of circular polypeptides. *J Biol Chem.* 2012; 287(32): 27026-32.
71. Farfan-Arribas DJ, Stern LJ, Rock KL. Using intein catalysis to probe the origin of major histocompatibility complex class I-presented peptides. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(42): 16998-7003.
72. Camarero JA, Muir TW. Biosynthesis of a head-to-tail cyclized protein with improved biological activity. *J Am Chem Soc.* 1999; 121(23): 5597-8.
73. Scott CP, Abel-Santos E, Wall M, Wahn DC, Benkovic SJ. Production of cyclic peptides and proteins in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(24): 13638-43.
74. Rad HS, Mousavi SL, Rasooli I, Amani J, Nadooshan MR. EspA-Intimin chimeric protein, a candidate vaccine against *Escherichia coli* O157:H7. *Iran J Microbiol.* 2013; 5(3): 244-51.
75. Olad GR, Tavalae M, Mohammad HZ, Ebrahimi F, Salimian J, Nazarean S, et al. *Shigella dysenteriae* stxA mutant (R170L-A231D-G234E) gene design and optimization of recombinant protein and purification. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2011.
76. Hesarak M, Saadati M, Honari H, Olad G, Heiat M, Zare M. Optimization of expression, extraction and purification of the N-terminal region of ipaD gene in *Shigella dysenteriae* by proteomics analysis. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2012; 14(2): 64-73.
77. Miri A, Salimian J, Rezai E, Olad G, Sadati M, Arefpour-Tehrani MA, et al. Evaluation and comparison of immunization level between recombinant proteins of binding subunit of enterotoxigenic *Escherichia coli* and botulinum toxin. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2013; 15(6): 159-66.
78. Zhao Z, Lu W, Dun B, Jin D, Ping S, Zhang W, et al. Purification of green fluorescent protein using a two-intein system. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2008; 77(5): 1175-80.
79. Mathys S, Evans TC, Chute IC, Wu H, Chong S, Benner J, et al. Characterization of a self-splicing mini-intein and its conversion into autocatalytic N- and C-terminal cleavage elements: facile production of protein building blocks for protein ligation. *Gene.* 1999; 231(1-2): 1-13.
80. Chong S, Shao Y, Paulus H, Benner J, Perler FB, Xu MQ. Protein splicing involving the *Saccharomyces cerevisiae* VMA intein. The steps in the splicing pathway, side reactions leading to protein cleavage, and establishment of an in vitro splicing system. *J Biol Chem.* 1996; 271(36): 22159-68.
81. Klabunde T, Sharma S, Telenti A, Jacobs WR, Jr., Sacchettini JC. Crystal structure of GyrA intein from *Mycobacterium xenopi* reveals structural basis of protein splicing. *Nat Struct Biol.* 1998; 5(1): 31-6.
82. Williams NK, Prosser P, Liepinsh E, Line I, Sharipo A, Littler DR, et al. In vivo protein cyclization promoted by a circularly permuted *Synechocystis* sp. PCC6803 DnaB mini-intein. *J Biol Chem.* 2002; 277(10): 7790-8.

83. Banki MR, Gerngross TU, Wood DW. Novel and economical purification of recombinant proteins: intein-mediated protein purification using in vivo polyhydroxybutyrate (PHB) matrix association. *Protein Sci.* 2005; 14(6): 1387-95.
84. Camarero JA, Kwon Y, Coleman MA. Chemoselective attachment of biologically active proteins to surfaces by expressed protein ligation and its application for "protein chip" fabrication. *J Am Chem Soc.* 2004; 126(45): 14730-1.
85. Burbulis I, Yamaguchi K, Gordon A, Carlson R, Brent R. Using protein-DNA chimeras to detect and count small numbers of molecules. *Nat Methods.* 2005; 2(1): 31-7.
86. Ozawa T, Nogami S, Sato M, Ohya Y, Umezawa Y. A fluorescent indicator for detecting protein-protein interactions in vivo based on protein splicing. *Anal Chem.* 2000; 72(21): 5151-7.
87. Huang X, Narayanaswamy R, Fenn K, Szpakowski S, Sasaki C, Costa J, et al. Sequence-specific biosensors report drug-induced changes in epigenetic silencing in living cells. *DNA Cell Biol.* 2012; 31 Suppl 1: S2-10.
88. Kanno A, Yamanaka Y, Hirano H, Umezawa Y, Ozawa T. Cyclic luciferase for real-time sensing of caspase-3 activities in living mammals. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2007; 46(40): 7595-9.
89. Evans TC, Jr., Xu MQ, Pradhan S. Protein splicing elements and plants: from transgene containment to protein purification. *Annu Rev Plant Biol.* 2005; 56: 375-92.
90. Zhu F, Liu Z, Wang X, Miao J, Qu H, Chi X. Inter-chain disulfide bond improved protein trans-splicing increases plasma coagulation activity in C57BL/6 mice following portal vein FVIII gene delivery by dual vectors. *Sci China Life Sci.* 2013; 56(3): 262-7.

Structure, function and inteins application in biotechnology: A review

Sedighian H¹, Olad GR¹, Mahboobi M², Foad Heydari M³, Kooshki H⁴, Latifi AM^{1*}

¹Applied Biotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ²Applied Microbiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ³Medical Biotechnology Research Center, Aja University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ⁴Applied Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

Received: 5/Feb/2015 Accepted: 8/Oct/2015

Background and aim: Inteins are genetic elements that actions resemble introns with this difference that inteins not only are transcribed but also are translated. These elements at the protein level are isolated from the host protein and joined their flanking regions with a peptide bond. The aim of this review at the first is a brief introduction to biotechnology and its applications then an understanding of genetic elements as inteins and their application in biotechnology.

Methods: In this study, the related articles for this subject were collected from international databases such as ISI, PubMed and Scopus and also Persian articles through Iranmedex database.

Results: At the first time, Inteins were identified in *Saccharomyces cerevisiae* in 1990. Protein splicing, an intramolecular process, was performed by Inteins without any cofactors and metabolic energy sources. Inteins have different applications in biotechnology such as Self-circularization for synthesis of large genetics library and rapid purifications of proteins.

Conclusion: Inteins due to the ability to cleave from proteins and ligate the up and down segment, natural or engineered, have different applications in many technologies such as enzymology, protein engineering, target detection, microarray production and purification of recombinant proteins.

Key words: Inteins, Protein Splicing, Biotechnology, Protein purification.

Cite this article as: Sedighian H, Olad GR, Mahboobi M, Foad Heydari M, Kooshki H, Latifi AM. Structure, function and inteins application in biotechnology: A review. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(1): 141-160.

***Corresponding author:**

Applied Biotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran. Tel: 00982182482549, E-mail: amlatifi290@gmail.com